



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

基于可降解磁性生物支架的离体三维心肌补片构建及其生物学特性分析

丛硕, 王文硕, 杨慧, 魏来, 王春生

引用本文:

丛硕, 王文硕, 杨慧, 等. 基于可降解磁性生物支架的离体三维心肌补片构建及其生物学特性分析[J]. 中国临床医学, 2020, 27(5): 779–784.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20201222>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

树突状细胞分泌的外泌体对心肌梗死后肝细胞血脂代谢的影响

Effect of exosomes derived from dendritic cells on lipid metabolism of hepatocytes after myocardial infarction
中国临床医学. 2019, 26(3): 445–449 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190530>

巨噬细胞在心肌梗死中作用的研究进展

Progress of role of macrophage in myocardial infarction
中国临床医学. 2020, 27(5): 852–856 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20192282>

压力超负荷致小鼠心肌肥厚中miR-378对热休克转录因子-1的调节作用

Regulation of miR-378 on heat shock factor-1 in cardiac hypertrophy induced by pressure overload
中国临床医学. 2019, 26(4): 543–548 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190291>

心肌梗死微环境中氧化低密度脂蛋白对树突状细胞诱导炎症反应的影响

Effect of oxidized low-density lipoprotein on dendritic cells-induced inflammation in microenvironment of myocardial infarction
中国临床医学. 2018, 25(3): 383–386 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20170950>

抑制PDGF/PDGFR通路可减轻心肌缺血再灌注损伤后心室重构

Inhibition of PDGF/PDGFR pathway reduces ventricular remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury
中国临床医学. 2020, 27(3): 428–432 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20200040>

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20201222

基于可降解磁性生物支架的离体三维心肌补片构建及其生物学特性分析

丛 硕, 王文硕, 杨 慧, 魏 来*, 王春生

复旦大学附属中山医院心外科, 上海 200032

[摘要] **目的:**合成可降解磁性氧化铁-壳聚糖-芦荟胶多孔支架,构建新型离体三维心肌补片,并探索其生物学特性。**方法:**配置不同质量分数的磁性氧化铁纳米颗粒-壳聚糖-芦荟胶的混合溶液,通过低温梯度冷冻干燥技术制备三维多孔支架,并通过扫描电子显微镜、动态热机械分析、孔隙率测试和体外降解实验等对其物理、生物特性进行分析。将幼稚心肌细胞消化后接种至支架混合培养 1 周。用荧光定量 PCR 技术检测离体心肌补片中,心肌细胞特异性基因及细胞凋亡基因的 mRNA 水平表达量。**结果:**0.1% 磁性氧化铁纳米颗粒-1%壳聚糖-0.2%芦荟胶多孔支架的表面孔洞均一,孔隙率为 0.930 ± 0.017 ;机械拉伸强度为 (0.33 ± 0.06) mPa,弹性极限应变约 0.12 ± 0.01 ,且弹性极限随支架中芦荟胶含量增加而减小($P < 0.05$);体外生理条件下,7 d 降解率为 $(82.9 \pm 2.4)\%$,且降解过程可被磁共振监测。支架可促进大鼠心肌细胞(H9C2)增殖,无细胞毒性。复合培养形成的离体心肌补片,可在外加电场下收缩-舒张,且补片中的心肌细胞成熟相关基因表达升高($P < 0.05$),凋亡抑制($P < 0.05$)。**结论:**可降解磁性氧化铁-壳聚糖-芦荟胶多孔支架适合心肌组织工程应用;其构建的离体三维心肌补片可促进心肌细胞成熟,具有植入心脏治疗心肌梗死后心肌损伤的潜能。

[关键词] 组织工程;生物支架;心肌梗死;氧化铁;芦荟胶**[中图分类号]** R 542.2 **[文献标志码]** A

Manufacture of biodegradable magnetic scaffold based *in-vitro* three-dimensional myocardial patch and its biological characteristics

CONG Shuo, WANG Wen-shuo, YANG Hui, WEI Lai*, WANG Chun-sheng

Department of Cardiac Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective:** To construct a biodegradable magnetic iron oxide nanoparticles-chitosan-aloe vera composite porous scaffold, then utilize it to build up an *in-vitro* novel three-dimensional myocardial patch and analyze its physiological property. **Methods:** The iron oxide nanoparticles (IONP)-chitosan (CS)-aloe vera (AV) mixed solutions were prepared with different mass fractions of IONPs and AV. Then, these mixtures were processed through gradient lyophilization in a freeze dryer to obtain porous scaffolds. Scaffolds were characterized and examined by scanning electron microscope, dynamic thermomechanical analysis, porosity and *in vitro* degradation test to investigate their physical and biological properties. Then the scaffold was seeded with the immature cardiomyocytes and co-cultured for seven days to obtain an *in-vitro* myocardial patch. Finally, the mRNA in the tissue was extracted to analyze the expression of the cardiac-specific and apoptosis genes by quantitative polymerase chain reactions. **Results:** The synthesized 0.1% IONP-1% CS-0.2% AV composite porous scaffold had sizeable highly-connected surface pores and a porosity of 0.930 ± 0.017 . It also displayed a high swelling rate ($>1\ 000\%$), pleasant tensile strength (0.33 ± 0.06) mPa, as well as 0.12 ± 0.01 extreme tensile elastic strain but diminished when AV content increased ($P < 0.05$). The scaffold presented a rapid *in-vitro* degradation ($[82.9 \pm 2.4]\%$ in 7 days), which was monitored under magnetic resonance imaging. The scaffold exhibited an incentive effect of rat cardiomyocytes (H9C2) proliferation without cytotoxicity. The obtained *in-vitro* myocardial patch not only demonstrated physiological contraction-relaxation under an extra electric field, but facilitated the expression of cardiac-specific genes ($P < 0.05$) and inhibited apoptosis ($P < 0.05$). **Conclusions:** Biodegradable magnetic IONP-CS-AV composite porous scaffolds have appropriate features for myocardial tissue engineering applications. The scaffold-based three-dimensional *in-vitro* myocardial patch can facilitate the maturation of cardiomyocytes, thus might provide a potential therapeutic method for treating post-infarct patients by

[收稿日期] 2020-05-27 **[接受日期]** 2020-09-24**[基金项目]** 国家自然科学基金(81801844). Supported by National Natural Science Foundation of China(81801844).**[作者简介]** 丛 硕, 硕士. E-mail: shuo.cong@outlook.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-64041990, E-mail: wei.lai@zs-hospital.sh.cn

implantation.

[Key Words] tissue engineering; scaffold; myocardial infarction; iron oxide; aloe vera

心肌梗死及其导致的心肌重构和心衰长期以来是全球排名第一的致死因素^[1-2]。严重的心肌缺血会造成大面积心肌细胞坏死,由于心肌细胞再生能力十分低下,最终可演变为心力衰竭^[3]。近年来,虽然干细胞技术被应用于心肌梗死的治疗^[4-6]。然而直接注射干细胞,存活率低且无法与原有心肌有效整合,难以维持稳定的疗效^[7-8]。运用组织工程技术将干细胞先在体外复合于组织工程支架中,从而有效提高植入后干细胞的存活率,促进其与既有心肌建立血供联系以形成有功能的整体,成为当下重要的开拓性研究方向之一。

作为组织工程基本构架的生物支架材料必须满足生物相容性、可降解性、合适的厚度与良好的支撑性能等条件。这种材料首先需要具有合适的孔径与良好的孔隙率,能够为细胞生长提供足够的空间,使附着生长的细胞能获得充足的氧与养分输送而提高存活率;同时需要有生物功能性亲水表面,促进细胞黏附、增殖、分化,刺激细胞外基质形成;还要具有较高的抗压强度,表现出与自然心脏组织良好的生物机械适应性^[9]。

有研究^[10]表明,壳聚糖作为一种碱性的天然多糖,具有良好的生物相容性、生物可降解性、内在抗菌活性以及与生长因子结合的能力;而芦荟胶已被多项实验证明具有抑制凋亡、促进细胞增殖的作用^[11]。二者结合,可作为一种较理想的支架材料植入体内。此外,临床试验^[12]证实,围手术期补充铁元素可以减少因失血所致的术后贫血的发生,并可以增强心脏搏出量和肾滤过率^[13-14]。而对于急性心肌梗死的患者,增加血液循环中铁元素含量可以明显缩小心肌梗死面积并延缓左室重构^[15]。因此,本研究以磁性氧化铁纳米颗粒(iron oxide nanoparticles, IONP)、壳聚糖和芦荟胶为原料合成新型磁性生物支架,并在此基础上构建离体三维心肌组织补片,探索其生物学特性,期望能为心肌梗死的移植物替代治疗提供新的选择。

1 材料和方法

1.1 磁性生物支架的制备 将0.6 g冰醋酸溶于100 mL纯水中制得弱酸性溶剂;称取1 g壳聚糖和0.2 g芦荟提取物粉末,缓慢加入剧烈搅拌的溶剂

中,至溶液呈半透明状。通过溶剂热法制得IONP^[16],并将其加入上述溶液中,形成质量分数约为0.1%的磁性氧化铁、1%的壳聚糖及0.2%的芦荟黑色混合溶液。将上述混合溶液以固定速率于液氮中快速定型后,-50℃冷冻干燥48 h,制得磁性生物支架。使用前,用⁶⁰Co辐照灭菌(25 kGy)。

1.2 力学性能表征 采用动态热机械分析仪Q850测试多孔支架的拉伸强度。将制备的支架裁剪成5 mm×2 mm×30 mm的长方条,固定在测试台上。以100~250 N的拉力,将样品以1 mm/min速度沿轴线拉伸至断裂。将所获得数据制图,获得材料的弹性模量和弹性应变极限。

1.3 孔隙率测试 将支架置于体积为 V_0 的无水乙醇中,放入真空箱中,抽真空,记复合材料与乙醇的总体积为 V_1 。移出支架并记录剩下的无水乙醇体积为 V_2 。支架的孔隙率(P)= $(V_0 - V_2)/(V_1 - V_2) \times 100\%$ 。

1.4 体外降解实验 将灭菌处理后的含有不同浓度芦荟胶成分的多孔支架称质量,记为(W_i)。浸入5 mL含有0.2 mg/mL胶原酶I的PBS溶液,于不同时间取出支架,离心干燥称质量,记为(W_f)。降解度(D)= $[(W_i - W_f)/W_i] \times 100\%$

同时,用磁共振监测不同时间点的含0.1% IONP的多孔支架(氧化铁组)以及不含IONP的多孔支架(无氧化铁组)的降解过程,并记录影像。

1.5 支架细胞毒性测试 将上述多孔支架裁剪成5 mm×5 mm×2 mm大小,浸泡于3 mL含5% FBS的DMEM培养液中72 h,并收集浸出液。将等数量H9C2大鼠心肌细胞接种至RTCA计数培养板内,加入支架材料浸出液200 μ L培养(支架组)。用同样置于37℃ 72 h的DMEM+5%FBS培养液培养的细胞作为对照。设定程序,实时监测细胞48 h,观察其贴壁密度以及增殖速率。将所得数据绘图,比较两组细胞毒性。

1.6 离体三维心肌补片的构建 选取经⁶⁰Co灭菌后的多孔支架,裁剪成约5 mm×5 mm×2 mm大小(约1 g),放置于底部直径60 mm的低吸附细胞培养皿中。按 4×10^5 个/ cm^3 密度,将分化至第21天的人心肌细胞接种到多孔支架上,并用含5%FBS的DMEM培养液培养7 d后,进行其他实验。

1.7 三维补片形貌表征 将培养7 d的离体心肌补片置入2.5%戊二醛,4℃固定12 h;0.1 mmol/L PBS漂洗后,用1%锇酸固定液固定1 h;用30%~100%乙醇梯度脱水;临界点干燥、喷金后,扫描电镜观察并摄片。

1.8 收缩-舒张功能测试 将培养7 d的离体三维心肌补片置于两电极之间,设定电极放电参数为40 mV、5 ms、0.2 Hz。记录组织收缩-舒张影像,用ImageJ图像分析软件对影像进行分析,用Clampfit轨迹拟合软件分析收集的数据,得出收缩-舒张曲线。

1.9 定量PCR 采用定量PCR方法分析支架组心肌补片与对照组心肌组织心肌细胞特异性基因

及凋亡相关基因表达。按照 TRIzol (Thermo Fisher Scientific, 美国)操作步骤提取补片及组织总 RNA。使用 ReverTra Ace™ 逆转录试剂盒 (TOYOBA, 日本) 逆转录后,用 SYBR Green Realtime PCR Master Mix™ 试剂盒 (TOYOBA, 日本) 行定量 PCR 检测。设计肌钙蛋白 T (cardiac troponin T, cTnT)、B 型钠尿肽 (B-type natriuretic peptide, BNP)、心房钠因子 (atrial natriuretic factor, ANF)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax) 特异性引物,序列见表 1。以各目的基因与 GAPDH 表达量比值为目的基因相对表达量。各实验重复 3 次。

表 1 心肌细胞特异性基因及凋亡相关基因引物序列

基因	上游引物序列(5'→3')	下游引物序列(5'→3')
ANF	CCC ATG TAC AAT GCC GTG TCC AAC	CCC GCT TCT TCA TTC GGC TCA CT
BNP	TGG AAA CGT CCG GGT TAC AG	CTG ATC CGG TCC ATC TTC CT
cTnT	AAA CCA AAG CCC AGG TCG TTC	AGG TCC TTC TCC ATG CGC TTC
Bcl-2	CTG AGT ACC TGA ACC GGC ACC T	CAG CCC AGA CTC ACA TCA CCA AG
Bax	CAC TGA AGC GAC TGA TGT CCC TGT	ACT CCC GCC ACA AAG ATG GTC AC

1.10 统计学处理 使用 GraphPad Prism 8.0 分析数据,所得数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组数据组间比较使用 Student *t* 检验;多组数据比较使用单因素方差分析法 (one-way ANOVA) 检验。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 磁性生物支架的表面特征及孔隙率 通过梯度冷冻干燥法制得的磁性生物支架材料表面结构见图 1A,可见梯度冷冻干燥法使该材料表面具有有序且联通性好的微米级孔,平均直径为 $(78.5 \pm 1.0) \mu\text{m}$,平均面积为 $(1.09 \pm 0.07) \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 。此外,从其局部放大图可见孔壁上均匀分布有四氧化三铁颗粒。通过乙醇替代法对用不同芦荟质量分

数制得的支架进行孔隙率测试,发现所有多孔支架的孔隙率>92%,表明所获得多孔支架内部为联通孔洞结构;随着制备溶液中芦荟含量的增多,孔隙率存在升高趋势(图 1B),表明芦荟成分的加入,使水分子分布更加均匀,冻干后进一步增强了支架的孔隙。

2.2 磁性生物支架的力学特性 通过动态热机械分析仪测定不同质量分数芦荟制得的支架在干燥状态下的机械拉伸强度及弹性拉伸应变极限,结果(图 1C~1D)显示:多孔支架的机械拉伸强度并未随芦荟含量变化而改变,均约 0.3 mPa;但随着芦荟含量的增多,支架的弹性拉伸应变极限量减小($P<0.05$),表明芦荟成分的加入,影响了壳聚糖分子之间的氢键结构强度,使得支架弹性降低。

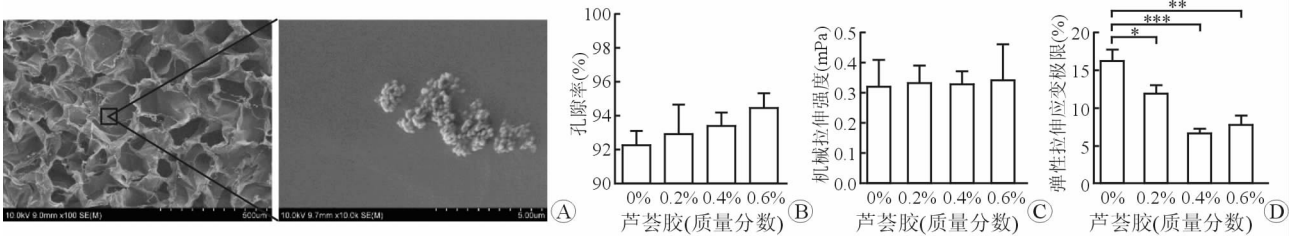


图 1 磁性生物支架的物理表征

A:磁性生物支架表面扫描电镜图;B:乙醇替代法测量支架孔隙率;C,D:动态热机械分析评价支架的机械拉伸强度和弹性拉伸应变极限。
* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

2.3 磁性生物支架的生物学特性 经胶原酶 I 模拟的体外生物降解测试结果(图 2A)显示:含有 0.2% 芦荟胶成分的磁性生物支架表现出更好的生物降解速率,第 3 天已降解超过 80%,第 7 天达到 $(82.9 \pm 2.4)\%$;当芦荟胶成分 $\geq 0.4\%$ 时,降解速率过快,第 2 天就几乎完全降解,无法固定称质量,提示复合支架的成分及结构与生物细胞外基质相似,使支架易被降解。磁共振(T_2 加权 TSE 序列影像,图 2B)显示:随着时间延长,氧化铁组多孔支架由低信号逐渐转变为均质的高信号;而无氧化铁组多孔支架一直为均质的高信号。

2.4 磁性生物支架的细胞毒性 以类型相似但增殖能力更强的大鼠心肌细胞(H9C2)代替人心肌细胞对支架材料的体外细胞毒性进行评估,结果(图 2C~2D)显示:用支架的浸出液培养的 H9C2 细胞密度略高于对照组,倍增时间为 (30.8 ± 5.4) h,约为对照组的 3/4,倍增速率优于对照组,表明多孔支架对心肌细胞无显著毒性作用,其析出成分反而能促进细胞增殖。

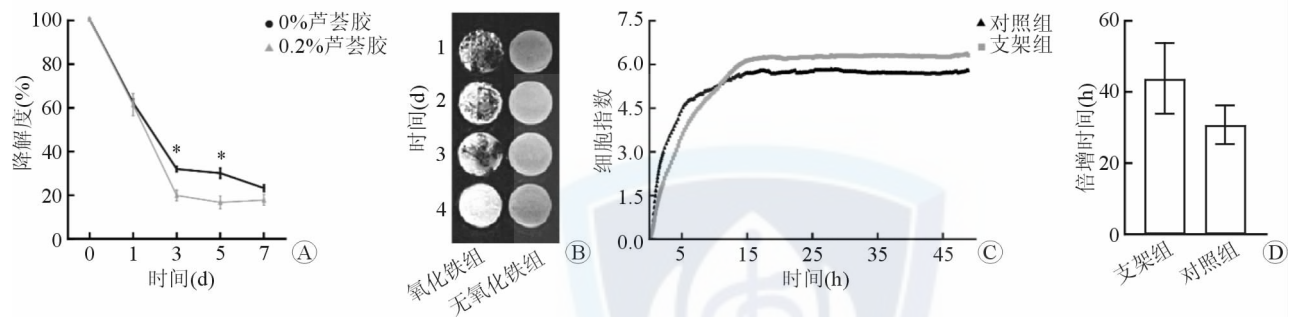


图 2 磁性生物支架的生物学特性及毒性

A: 磁性生物支架在溶菌酶作用下的体外降解速率; B: 支架降解过程的磁共振图像; C, D: 体外细胞毒性测试中 H9C2 增殖-时间曲线和倍增时间。* $P < 0.05$

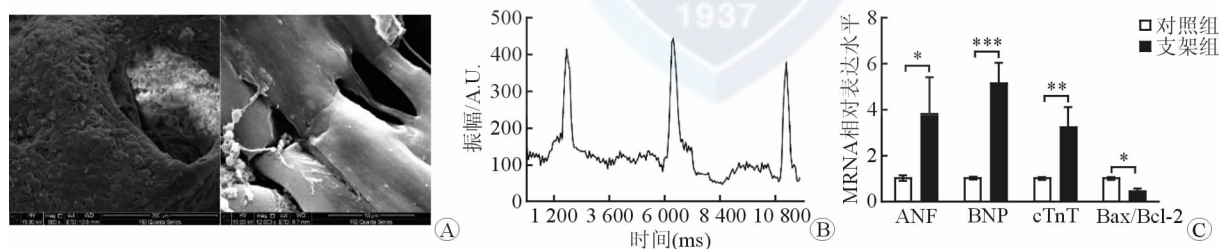


图 3 三维心肌补片的表征及相关基因表达量分析

A: 三维心肌补片表面扫描电镜图; B: 心肌补片的收缩-舒张偶联曲线; C: 荧光定量 PCR 检测心肌补片中心肌特异性基因及凋亡相关基因表达量差异。ANF: 心房钠尿因子; BNP: B 型钠尿肽; cTnT: 肌钙蛋白 T; Bcl-2: B 细胞淋巴瘤/白血病-2; Bax: Bcl-2 相关 X 蛋白。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

3 讨论

成年人的心肌自我更新能力十分有限。心脏

2.5 离体三维心肌补片的形貌特征及收缩-舒张功能 细胞与支架共培养 7 d 后,支架表面心肌细胞黏附稳固、伸展良好,而支架孔隙也几乎被迁移的心肌细胞填充;心肌细胞排列整齐,在细胞与细胞、细胞与支架之间已形成紧密的结构,局部放大图可见相邻细胞间形成的紧密连接(图 3A)。在外加电场刺激下,三维心肌补片可产生有节律的收缩-舒张运动(图 3B),表明构建的三维心肌补片具有一定的生理功能。

2.6 离体三维心肌补片对心肌细胞成熟与细胞凋亡的作用 对培养 7 d 后的三维心肌补片(支架组)以及同时间培养的自然成簇的心肌细胞(对照组)进行比较,结果(3C)显示:支架组心肌补片中心肌结构特异性蛋白 ANF 的 mRNA 表达量是对照组的 3.82 倍($P = 0.0384$),心肌细胞成熟相关基因 BNP 和 cTnT 的 mRNA 表达水平分别为对照组的 5.14 倍($P < 0.001$)和 3.24 倍($P = 0.003$),凋亡相关基因 Bax/Bcl-2 比例仅为对照组的 0.44 倍($P = 0.012$)。

缺血性疾病发生后,缺血区域心肌细胞损伤或死亡,但周围的心肌细胞无法分裂增殖,导致患者心力衰竭以致死亡。目前,基于干细胞的替代修复方

法正越来越受到人们重视,其中组织工程心肌已成为最有希望的治疗方案之一^[17-18]。因此,构建具有功能的组织工程心肌补片成为实现该目标的研究重点。

生理条件状态下,心肌细胞在由细胞外基质及相邻细胞形成的三维立体微环境中生长,与周围细胞通过传递的化学、电以及物理机械等信号紧密联系。因此,重建具有生理功能心肌组织的关键是构建良好生物相容性的立体支架材料,为细胞提供多维空间,并同时促进心肌细胞成熟以及功能化^[19],这样在未来才可用于组织移植,改善心肌梗死患者心脏功能。

支架的核心要素是孔隙和三维结构。有研究^[10]表明,50~100 μm 的孔径最适合心肌细胞生长及存活,支架的孔径过大会影响内皮细胞的迁移,从而阻碍血管化进程;孔径过小则导致细胞没有足够的生长空间,同时会妨碍养料的运输。本研究中的多孔支架以壳聚糖为骨架结构,加入芦荟成分,其活性基团具有强烈亲水性,使水分子分布更加均一,进而使干燥后的支架孔径均一,避免孔径过大或过小^[20]。此外,梯度冷冻使支架产生了有序的层状结构而表现出规则的三维结构,为心肌细胞生长提供足够的空间,并使心肌补片中的心肌细胞形成良好的偶联,进而为细胞迁移及细胞间物质交换提供便利条件,有利于提高附着心肌细胞的存活率,促进心肌细胞成熟,改善心肌补片的机械性能和力学强度^[21],提高体外培养的组织工程心肌补片的生理功能。

其次是生物相容性,由于壳聚糖本身就是一种天然的碱性多糖,结合芦荟成分,使该支架具有良好的生物降解速率。但芦荟成分也部分破坏了壳聚糖骨架间的氢键结构,在使其降解速率加快的同时,也削弱了壳聚糖结构的拉伸应变能力^[22]。芦荟强烈亲水特性使支架更有利于心肌细胞黏附,同时其释放的微量因子具有促进心肌细胞新陈代谢、改善心肌收缩功能的作用。

随着临床研究者对生物安全性的考虑增加,植入支架的可视化及实时监测也受到更多关注。氧化铁材料已被 10 余年的临床应用证明在体内具有良好的安全性^[23-24]。该类材料通过体内巨噬细胞的吞噬分解产生铁离子,并最终进入机体铁元素循环^[25]。故本研究引入磁性四氧化三铁纳米颗粒,赋予该支架在磁场作用下特殊的响应性,使其降解过

程可用磁共振影像进行追踪,结果表明,随着降解的进行,该支架内部的 IONP 不断被分解或转运流失,使其磁性强度发生变化,且与降解程度正相关。此外,有研究^[26]表明,利用表面晶体生长的方法成功制备可降解复合氧化铁支架,承载骨髓间充质干细胞可以有效改善心肌梗死所致心脏泵血功能降低。因此,进一步研究将着重关注该组织工程心肌补片植入心肌梗死动物模型体内后的安全性和有效性。

综上所述,本研究应用梯度冷冻干燥技术,成功制备了 IONP-壳聚糖-芦荟胶多孔支架,并以之构建得到具有收缩-舒张生理功能的离体三维心肌补片。经证实该磁性生物支架可有效促进心肌细胞增殖和功能成熟,克服了传统细胞疗法存在的细胞成活率低及不成熟等问题,为将其应用于以心肌梗死为代表的缺血性心脏病的治疗提供了基础。

参考文献

- [1] MENDIS S, DAVIS S, NORRVING B. Organizational update: the world health organization global status report on noncommunicable diseases 2014; one more landmark step in the combat against stroke and vascular disease[J]. *Stroke*, 2015, 46(5): e121-e122.
- [2] CHEN W W, GAO R L, LIU L S, et al. China cardiovascular diseases report 2015: a summary[J]. *J Geriatr Cardiol*, 2017, 14(1): 1-10.
- [3] SHEN L, RAMIRES F, MARTINEZ F, et al. Contemporary characteristics and outcomes in chagasic heart failure compared with other nonischemic and ischemic cardiomyopathy[J]. *Circ Heart Fail*, 2017, 10(11): e004361.
- [4] KARANTALIS V, DIFEDE D L, GERSTENBLITH G, et al. Autologous mesenchymal stem cells produce concordant improvements in regional function, tissue perfusion, and fibrotic burden when administered to patients undergoing coronary artery bypass grafting: the prospective randomized study of mesenchymal stem cell therapy in patients undergoing cardiac surgery (PROMETHEUS) trial[J]. *Circ Res*, 2014, 114(8): 1302-1310.
- [5] JANG J, PARK H J, KIM S W, et al. 3D printed complex tissue construct using stem cell-laden decellularized extracellular matrix bioinks for cardiac repair [J]. *Biomaterials*, 2017, 112: 264-274.
- [6] TOYSERKANI N M, JØRGENSEN M G, TABATABAEIFAR S, et al. Concise review: a safety assessment of adipose-derived cell therapy in clinical trials; a systematic review of reported adverse events[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(9): 1786-1794.
- [7] BOLLI R. Repeated cell therapy: a paradigm shift whose

- time has come[J]. *Circ Res*, 2017, 120(7): 1072-1074.
- [8] AFZAL M R, SAMANTA A, SHAH Z I, et al. Adult bone marrow cell therapy for ischemic heart disease: evidence and insights from randomized controlled trials [J]. *Circ Res*, 2015, 117(6):558-575.
- [9] REIS L A, CHIU L L, FERIC N, et al. Biomaterials in myocardial tissue engineering[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016, 10(1): 11-28.
- [10] TORMOS C, MADIHALLY S. Chitosan for cardiac tissue engineering and regeneration [M]. *Chitosan Based Biomaterials Volume 2*. Elsevier. 2017: 115-143.
- [11] CESAR V, JOZIO I, BEGOVIO L, et al. Cell-type-specific modulation of hydrogen peroxide cytotoxicity and 4-hydroxynonenal binding to human cellular proteins in vitro by antioxidant aloe vera extract [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2018, 7(10): 125.
- [12] 骆晨涛, 丁文军, 蒋 密, 等. 蔗糖铁对二次开胸手术围术期贫血患者的疗效分析[J]. *中国临床医学*, 2019, 26(2): 277-280.
- [13] TOBLI J E, DI GENNARO F, RIVAS C. Changes in echocardiographic parameters in iron deficiency patients with heart failure and chronic kidney disease treated with intravenous iron [J]. *Heart Lung Circ*, 2015, 24(7): 686-695.
- [14] FLORIAN A, LUDWIG A, RÖSCH S, et al. Positive effect of intravenous iron-oxide administration on left ventricular remodelling in patients with acute ST-elevation myocardial infarction-a cardiovascular magnetic resonance (CMR) study [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 173(2):184-189.
- [15] LILL R, SRINIVASAN V, MÜHLENHOFF U. The role of mitochondria in cytosolic-nuclear iron - sulfur protein biogenesis and in cellular iron regulation [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2014, 22:111-119.
- [16] WANG X, YU J, SHI G, et al. Solvothermal synthesis of magnetite hollow submicrospheres and mesoporous nanoparticles[J]. *J Mater Sci*, 2014, 49(17): 6029-6038.
- [17] LEE J H, PROTZE S I, LAKSMAN Z, et al. Human pluripotent stem cell-derived atrial and ventricular cardiomyocytes develop from distinct mesoderm populations [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(2): 179-194, e174.
- [18] CHONG J J, YANG X, DON C W, et al. Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts [J]. *Nature*, 2014, 510(7504): 273-277.
- [19] BOWMAN P R T, SMITH G L, GOULD G W. GLUT4 expression and glucose transport in human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes[J]. *Plos One*, 2019, 14(7): e0217885.
- [20] NIETO-SUÁREZ M, LÓPEZ-QUINTELA M A, LAZZARI M. Preparation and characterization of crosslinked chitosan/gelatin scaffolds by ice segregation induced self-assembly[J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 141: 175-183.
- [21] RUAN J L, TULLOCH N L, RAZUMOVA M V, et al. Mechanical stress conditioning and electrical stimulation promote contractility and force maturation of induced pluripotent stem cell-derived human cardiac tissue [J]. *Circulation*, 2016, 134(20): 1557-1567.
- [22] JITHENDRA P, RAJAM A M, KALAIVANI T, et al. Preparation and characterization of aloe vera blended collagen-chitosan composite scaffold for tissue engineering applications [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, 5(15): 7291-7298.
- [23] VASANAWALA S S, NGUYEN K L, HOPE M D, et al. Safety and technique of ferumoxylol administration for MRI [J]. *Magn Reson Med*, 2016, 75(5): 2107-2111.
- [24] WANG W, LIU H, LU Y, et al. Controlled-releasing hydrogen sulfide donor based on dual-modal iron oxide nanoparticles protects myocardial tissue from ischemia-reperfusion injury [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 875-888.
- [25] MACDOUGALL I C, STRAUSS W E, MCLAUGHLIN J, et al. A randomized comparison of ferumoxylol and iron sucrose for treating iron deficiency anemia in patients with CKD[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014, 9(4): 705-712.
- [26] WANG W, TAO H, ZHAO Y, et al. Implantable and biodegradable macroporous iron oxide frameworks for efficient regeneration and repair of infarcted heart [J]. *Theranostics*, 2017, 7(7): 1966-1975.

[本文编辑] 王 迪, 贾泽军